

PCT

世界知的所有権機関

国際事務局



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 6 C12C 11/09, C12G 1/073, 3/02	A1	(11) 国際公開番号 WO 95/07343 (43) 国際公開日 1995年3月16日 (16.03.95)
(21) 国際出願番号 PCT/JP94/01476 (22) 国際出願日 1994年9月7日 (07. 09. 94) (30) 優先権データ 特願平5/246128 1993年9月7日 (07. 09. 93) JP 特願平5/347067 1993年12月27日 (27. 12. 93) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) サッポロビール株式会社 (SAPPORO BREWERIES LIMITED) (JP/JP) 〒104 東京都中央区銀座七丁目10番1号 Tokyo, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 進藤 昌 (SHINDO, Masashi) (JP/JP) 〒425 静岡県焼津市岡当日10番地 サッポロビール株式会社 醸造技術研究所内 Shizuoka, (JP) (74) 代理人 弁護士 久保田藤郎, 外 (Kubota, Fujio et al.) 〒103 東京都中央区日本橋3丁目3番12号 E-1ビル Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, CA, CN, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書		
(54) Title : METHOD OF PRODUCING LIQUOR (54) 発明の名称 酒類の製造法 <div data-bbox="568 1239 1112 1575"> </div> (57) Abstract A method of producing a liquor, comprising the steps of feeding yeast to be fixed into a fluidized bed reactor equipped with a liquid circulation pipe and a gas exhaust port, supplying a brewing raw material liquid to the reactor, extracting a part of a culture liquid from the top of the reactor and returning the culture liquid into the bottom of the reactor. By this method fermentation is conducted while establishing circulation. Thus, a fluidized bed reactor filled with fixed yeast is used, fermented liquor in the reactor is circulated so as to move the fixed yeast. Accordingly, most of the carbon dioxide produced can be discharged outside the system without being dissolved in the fermented liquor. Moreover, amino acids in the brewing raw material liquid can be efficiently utilized by the yeast, so that the amino acid concentration in the product is low and the flavor is excellent.		

(57) 要約

本発明は、液循環用パイプとガス排気口を備えた流動層型反応器に固定化酵母を充填し、該反応器に醸造原料液を供給し、反応器の上部より培養液の一部を抜き出し、反応器の下部より反応器内部に前記培養液を戻すことにより循環流を形成しつつ培養することを特徴とする酒類の製造法を提供する。本発明の方法によれば、酒類の製造に当たり、固定化酵母を充填した流動層型反応器を用いると共に、反応器内の発酵液を循環させることによって固定化酵母を流動させるため、産生した炭酸ガスの大部分は液に溶解することなく系外に排出することができ、その上、醸造原料液中のアミノ酸が効率よく酵母により資化され、酒類製品中のアミノ酸濃度が低く、香味が良好である。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AM	アルメニア	DK	デンマーク	LI	リヒテンシュタイン	PT	ポルトガル
AT	オーストリア	EE	エストニア	LK	スリランカ	RO	ルーマニア
AU	オーストラリア	ES	スペイン	LR	リベリア	RU	ロシア連邦
BB	バルバドス	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SE	スウェーデン
BE	ベルギー	FR	フランス	LU	ルクセンブルグ	SI	スロベニア
BG	ブルガリア	GB	ガボン	LV	ラトヴィア	SK	スロヴァキア共和国
BJ	ベナン	GB	イギリス	MC	モナコ	SN	セネガル
BR	ブラジル	GE	グルジア	MD	モルドバ	SZ	スワジランド
BY	ベラルーシ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TD	チャド
CA	カナダ	GR	ギリシャ	ML	マリ	TG	トーゴ
CF	中央アフリカ共和国	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	TJ	タジキスタン
CG	コンゴ	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	TT	トリニダード・トバゴ
CH	スイス	IT	イタリア	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CI	コート・ジボアール	JP	日本	MX	メキシコ	UG	ウガンダ
CN	カメルーン	KE	ケニア	NE	ニジェール	US	米国
CM	中国	KC	キルギスタン	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン共和国
CZ	チェコ共和国	KR	朝鮮民主主義人民共和国	NO	ノルウェー	VN	ヴェトナム
DE	ドイツ	KZ	カザフスタン	NZ	ニュージーランド		
				PL	ポーランド		

明 細 書

酒 類 の 製 造 法

技 術 分 野

本発明は、酒類の製造法に関し、詳しくは発酵中に産生される炭酸ガスの排出を容易にし、かつ酵母による原料中のアミノ酸の取り込みを促進させ、香味の安定した酒類を速やかに製造する方法に関する。

背 景 技 術

ビール、ワイン等の酒類の製造工程では、一般に醸造原料液中の炭素源、窒素源が酵母により消費されてエチルアルコールが生成される。

酵母を固定化する技術、例えば酵母を含水ゲル中に包埋させて固定化する技術が開発されてから、麦汁の連続醸造によるビールの製造法が提案されている（J. Inst. Brew., 84, 228(1981)）。

これらの方法は、酵母を高濃度で使用できるため、醸造期間の大幅な短縮が可能である。しかし、固定化酵母を充填層型反応器に充填してビール等の酒類を製造する場合、発酵中に産生する炭酸ガスのために以下に示す問題が生じる。

① 高レベルの溶存炭酸ガスが酵母の代謝生理に影響を

及ぼす。

②炭酸ガスの滞留により死空間が形成され、固液接触面積が減少する。

③炭酸ガスによる圧力によってゲル粒子が変形し、粒子同士の付着を促してガスや液の流路を塞ぎ、流れが不均一となる。

このような問題を解決するため、充填層型反応器内に産生した炭酸ガスを加圧することにより液中に溶解させる方法が試みられた(EBC Congress. Proc., 505(1981))が、この方法では酵母の代謝生理への影響が解消されない。

ところで、発酵に用いるバイオリアクターは、①攪拌槽型反応器、②充填層型反応器および③流動層型反応器の3つの形式に大別されるが、これらはそれぞれ特有の長所と欠点を有している(バイオリアクターの合理的設計と最適操作、151(1986)技術情報センター)。

これら反応器のうち炭酸ガス排出効果の高いものは攪拌槽型反応器と流動層型反応器である。なかでも、流動層型反応器は、温度やpHの制御が簡単で、物質の移動特性が良く、固定化酵母の圧力損失が少ないという特色があるため、アルコール発酵に用いられている。

流動層型反応器を用いたアルコール発酵において、固定化酵母を流動させ、かつ炭酸ガスの排出をよくするた

め、反応器の下部より不活性ガスを導入する方法が提案されている(Chem. Eng. Sci., 19, 215(1964))が、ガスの回収等にかかるため、実用的でない。また、機械的攪拌による方法は、固定化酵母が破壊されるという致命的な欠点がある。さらに、充填層型反応器に固定化酵母を充填して発酵を行った場合、酵母による原料中のアミノ酸の取り込みが低く、得られる発酵液のアミノ酸濃度が高くなり、香味上の問題がある。

本発明の目的は、上記の諸問題を解決して固定化酵母を用いる効率的な酒類の製造を提供することである。

発明の開示

本発明は第1に、液循環用パイプとガス排気口を備えた流動層型反応器に固定化酵母を充填し、該反応器に醸造原料液を供給し、反応器の上部より培養液の一部を抜き出し、反応器の下部より反応器内部に前記培養液を戻すことにより循環流を形成しつつ培養することを特徴とする酒類の製造法である。

さらに、本発明は第2に、上記の方法による培養の途中で、反応器に醸造原料液を供給すると共に、培養液の一部を反応器外に抜き出すことにより連続的に酒類を製造する方法に関する。

本発明では、前記の反応器下部より不活性ガスを導入

する方法の代わりに、液を循環させることによって固定化酵母を流動させる方法を採用している。

図面の簡単な説明

図 1 は、本発明に使用する流動層型反応器の 1 例を示す説明図である。

図 2 は、実施例 1 の連続発酵中の仮性エキスの経時変化を示すグラフである。

図中、(1) は麦汁タンク、(2) はポンプ、(3) は pH センサー、(4) は流動層型反応器、(5) は温度センサー、(6) はガス排気口、(7) は生成物タンクを示す。

発明を実施するための最良の形態

本発明では、図 1 に示した流動層型反応器を用いて酒類の製造を行う。この反応器では、発酵液の一部を強制的に循環させることにより、産生した炭酸ガスの排出を容易にしている。具体的には、図示したように、反応器内の発酵液を上部から抜き取りパイプを介して下部に導入することによって、発酵液を流動させている。そのため、発酵中に産生した炭酸ガスは液に溶解することなくガス排気口より反応器外に排出される。そのため、炭酸ガスによる酵母の代謝活性への影響を回避することがで

きる。

醸造原料液としては、ビール酵母、ワイン酵母、清酒酵母等の酒類酵母の増殖に適したものであればよく、既知のものを任意に使用することができるが、通常は麦芽汁、果汁、糖液、穀類糖化液などが単独でもしくは適宜混合して用いられる。その他、必要に応じて適当な栄養分などを加えることができる。

醸造原料液は、常法により殺菌したのち固定化酵母の充填された流動層型反応器に供給するが、その供給量は空間速度 $0.55 \sim 0.2 \text{ hr}^{-1}$ 、好ましくは $0.1 \sim 0.2 \text{ hr}^{-1}$ とする。ここで、空間速度は流動層型反応器に供給される醸造原料液の単位時間当たりの液量と酵母を担持した固定化担体量とを乗算して求められるものである。なお、酵母を担持した固定化担体の充填量は、反応器容積を基準として $5 \sim 50$ 容積%、好ましくは $10 \sim 30$ 容積%が適当である。

また、醸造原料液は反応器の上部、下部などの適当な位置から導入することができる。

次に、酒類の製造に用いる酵母としては、醸造原料液を代謝してアルコールや炭酸ガス等を産生する、いわゆる酒類酵母が使用され、具体的にはサッカロミセス・セレビシエ、サッカロミセス・ウバルム等を挙げることができる。ビール酵母、ワイン酵母、清酒酵母等の酒類酵

母は、使用目的等に応じて適宜選択すればよく、例えばサッカロミセス・セレビシエOC-2 (IAM 4175), サッカロミセス・セレビシエKyokai wine yeast No.1, サッカロミセス・セレビシエKyokai wine yeast No.3, サッカロミセス・セレビシエKyokai wine yeast No.4などがある。これら酵母は一般的によく知られており、最初の1株は東京大学のInstitute of Applied Microbiologyに保存されており、他の3株は財団法人日本醸造協会に保存されており、容易に入手することができる。

これら酵母は一般に通性嫌気性である。また、酵母を担持するために用いる担体としては、各種のものが使用できるが、特にキトサンビーズ, アルギン酸ビーズ, カラギーナンビーズ等が好適であり、セラミックやガラスなどのビーズは磨耗に弱いので、本発明の担体としては適当でない。なお、酵母の固定化については、それ自体公知（例えば福井三郎, 千畑一郎, 鈴木周一編、酵素化学（東京化学同人発行）, David Williams, Douglas M. Munnecke: Biotec. and Bioeng., 23, 1813 (1981) 参照）であり、本発明においても公知の手法により実施すればよい。

次に、発酵条件については基本的に既知の条件と変わらない。発酵温度としては、例えばビール醸造の場合は通常15℃以下、好ましくは8～10℃であり、ワイン

醸造の場合は通常 20℃ 前後、好ましくは 15～20℃ が適当である。

発酵中に循環する発酵液の循環速度は、例えば容量 1 リットルの反応器の場合、1 分間に 150～400 ml、好ましくは 200～250 ml が適当である。このような条件下で発酵を行うと、発酵液は完全混合に近い状態となり、効率よく発酵を行うことができる。

本発明で用いる流動層型反応器は、前述したように、物質の移動特性が良好であるため、醸造原料液に含まれるアミノ酸等は発酵過程において酵母に取り込まれ、資化される。そのため、酒類製品中のアミノ酸濃度は従来法によるものと比較して低減しており、香味が良好である。

本発明の方法は、ビールの製造の他にワイン、清酒などの他の酒類の製造にも利用できる。

実施例

次に、本発明を実施例により詳しく説明する。

実施例 1

ビール酵母〔サッカロミセス・セレビシエ IAM4206 (ATCC9080)〕を固定化した担体（キトサンビーズ）を容量 1 L の流動層型反応器に 250 ml 充填し、原麦汁エキスを 11% Plato に調整した麦汁を該反応器に 750 ml 導入し、反応器内発酵液の循環速度を 250 ml / 分に

設定して 11℃ にて回分発酵を行った。

反応器内発酵液の仮性エキスが 2.5 % Plato (発酵開始 19 時間後) になったところで、反応器下部より麦汁を 40 ml / 時間で通液し、反応器上部より同量の発酵液を抜き出しながら、循環流の下で連続発酵を開始した。その結果を図 2 に示す。

図から明らかなように、発酵期間中の仮性エキスは 2.5 % Plato と安定していた。また、発酵液中のアミノ酸濃度の測定値を第 1 表に示した。

本発明の方法によれば、酵母によりアミノ酸が取り込まれ、資化されるため、発酵液中のアミノ酸濃度は比較例や対照の方法に比べて低いことが判る。

第 1 表 発酵液中のアミノ酸濃度の比較

アミノ酸	アミノ酸濃度 (mg/l)		
	実施例	比較例	対照
アスパラギン酸	3	1 1	8
スレオニン	1	4	1
セリン	1	5	2
グルタミン酸	6	3 4	2 0
プロリン	3 1 6	3 4 1	3 5 0
グリシン	1 4	2 2	1 8
アラニン	4 0	1 0 2	6 0
バリン	3 2	7 8	3 2
メチオニン	1	9	1 0
イソロイシン	9	2 0	2 0
ロイシン	1 1	4 9	1 4
チロシン	4 3	5 6	4 5
フェニルアラニン	4 1	7 3	4 0
ヒスチジン	1 1	2 5	2 3
スルギニン	1 2	1 8	1 5
アルギニン	2 6	5 5	5 2

比較例 1

容量 500 ml の充填型反応器を使用し、ビール酵母〔サッカロミセス・セレビシエ IAM4206(ATCC9080)〕を固定化したキトサンビーズ 160 ml を充填し、11℃で発酵を行って、仮性エキス 2.5% Plato の発酵液を得た。

この場合は、発酵中に産生した炭酸ガスが反応器内に滞り、液の偏流が発生した。また、第1表に示したように、酵母によるアミノ酸の取り込みが不十分であるために、発酵液中のアミノ酸濃度は高い。なお、固定化しないで遊離酵母を用いる従来の方法による発酵を行った場合の発酵液（仮性エキス 2.5% Plato）中のアミノ酸濃度を参考のために対照として第1表に示した。

実施例 2

ワイン酵母（サッカロミセス・セルビシエ OC-2 (IAM 4175)）を固定化した担体（キトサンビーズ）を容量 1 リットルの流動層型反応器に 250 ml 充填し、糖度 22% Plato に調整した麦汁を該反応器に 750 ml 導入し、反応器内発酵液の循環速度を 250 ml / 分に設定して 20℃にて回分発酵を行った。

反応器内発酵液の仮性エキスが 4.0% Plato（発酵開始 40 時間後）になったところで、反応器下部よりブドウ果汁液を 18 ml / 時間で通過し、反応器上部より同量の発酵液を抜き出しながら、循環流の下で連続発酵

1 0

を開始した。

その結果、500時間にわたり安定に発酵を行い、ワインを醸造することができた。

産業上の利用可能性

本発明によれば、酒類の製造に当たり、固定化酵母を充填した流動層型反応器を用いると共に、反応器内の発酵液を循環させることによって固定化酵母を流動させるため、產生した炭酸ガスの大部分は液に溶解することなく系外に排出することができる。

しかも、醸造原料液中のアミノ酸が効率よく酵母により資化されるため、酒類製品中のアミノ酸濃度は従来法によるものと比較して低減しており、香味が良好である。

1 1

請 求 の 範 囲

(1) 液循環用パイプとガス排気口を備えた流動層型反応器に固定化酵母を充填し、該反応器に醸造原料液を供給し、反応器の上部より培養液の一部を抜き出し、反応器の下部より反応器内部に前記培養液を戻すことにより循環流を形成しつつ培養することを特徴とする酒類の製造法。

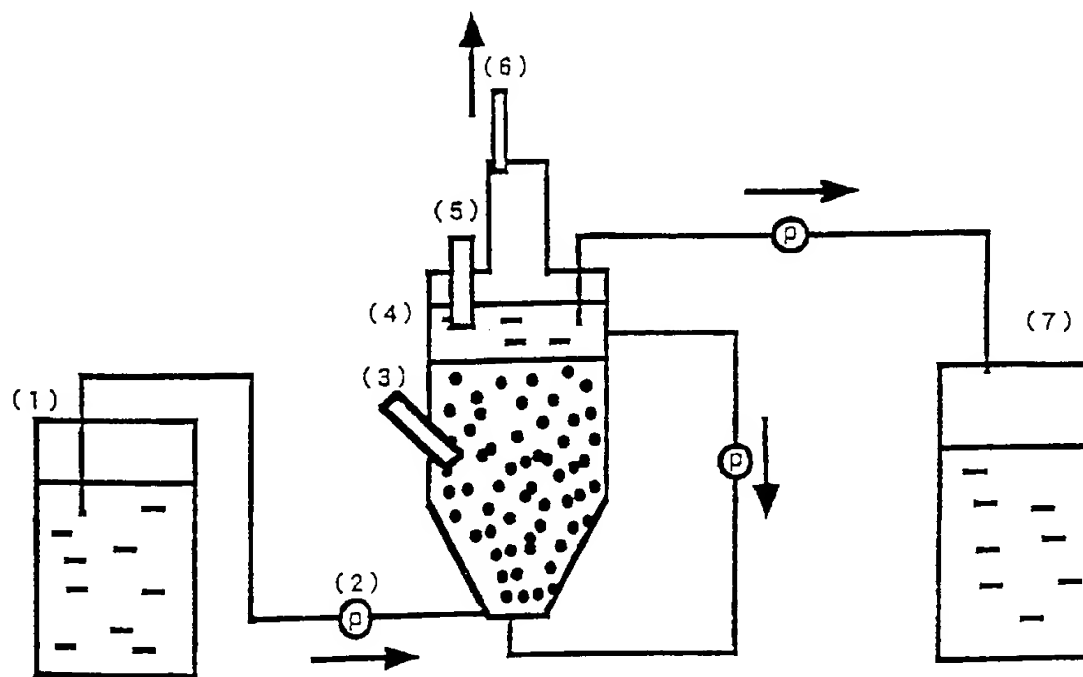
(2) 請求項 1 記載の方法による培養の途中で、反応器に醸造原料液を供給すると共に、培養液の一部を反応器外に抜き出すことにより連続的に酒類を製造する方法。

(3) 反応器が、pHセンサーと温度センサーを備えたものである請求項 1 記載の方法。

(4) 固定化酵母が、キトサン、アルギン酸およびカラギーナンの中から選ばれた担体に担持された酒類酵母である請求項 1 記載の方法。

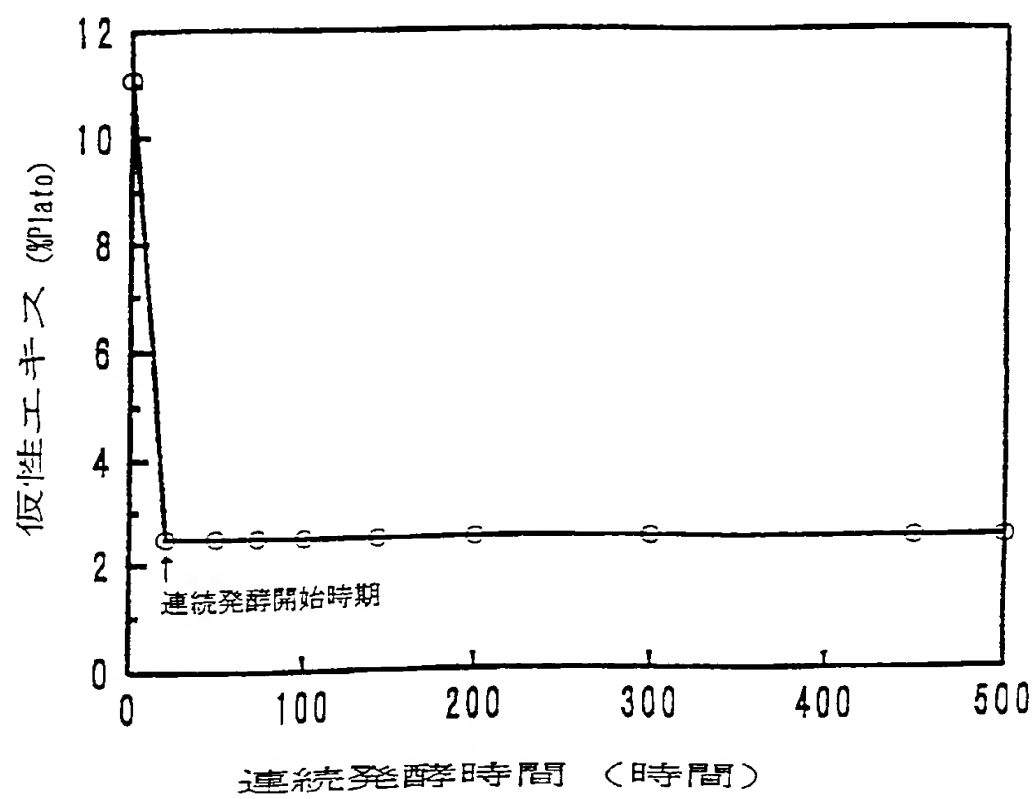
1/2

第1図



2/2

第2図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP94/01476

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C12C11/09, C12G1/073, C12G3/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁵ C12C11/00, C12G1/00, C12G3/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, A, 5-317023 (Kikusui Shuzo K.K.), December 3, 1993 (03. 12. 93), (Family: none)	1-4
A	JP, A, 1-277481 (Le. Ell Liquid S.A. Pull le expulwatetion de Purocede Jeoruje Claude), November 7, 1989 (07. 11. 89) & EP, A, 334728	1-4

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

November 1, 1994 (01. 11. 94)

Date of mailing of the international search report

November 22, 1994 (22. 11. 94)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. ⁸ C12C11/09, C12G1/073, C12G3/02		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl. ⁸ C12C11/00, C12G1/00, C12G3/02		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
WPI		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, A, 5-317023 (菊水酒造株式会社), 3. 12月. 1993 (03. 12. 93) (ファミリーなし)	1-4
A	JP, A, 1-277481 (ル・エール・リクイッド・ソシエテ アノニム・プール・ル・エチュド・エール・エクスブルワテシ ン・デ・プロセデ・ジエオルジエ・クロード), 7. 11月. 1989 (07. 11. 89) & EP, A, 334728	1-4
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日 若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日 の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と 矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のため に引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規 性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文 献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性 がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日		国際調査報告の発送日
01. 11. 94		22. 11. 94
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 谷口 博 電話番号 03-3581-1101 内線 3449